

韓國 잎담배에서 分離된 PVY系統

朴銀景* · 金鍾鎭** · 夫庚生***

Two New PVY Strains Isolated from Tobacco Plant in Korea

Park, E. K., J. J. Kim, and K. S. Boo

ABSTRACT : Since 1980, burley tobacco plants grown mainly in the western part of the Korea, have shown two new types of disease symptom. Both symptoms were found to be caused by two different PVY strains : the vein banding type by a PVY strain designated as PVY-VB and necrosis on leaf veins by a PVY strain designated as PVY-VN. Identification of the PVY strains was based on host range test, aphid (*Myzus persicae*) transmission test, physical properties, serology, and observation of virus particle morphology. The virus particles were measured to be about 730 nm without any difference in shape or dimensions between the two strains. Both strains also gave a positive reaction to the PVY antiserum in SDS-agar gel double diffusion test. These strains, however, gave a negative reaction to the tobacco etch virus and tobacco vein mottling virus antisera.

緒 論

감자바이러스 Y (PVY) 는 감자를 비롯한 가지과 작물을 위시하여 약 60種의 寄主를 갖고 있으며 대부분의 담배도 感受性인 것으로 알려져 있다.²⁰⁾

韓國에서의 PVY는 감자와 고추에서 많이 발생하는 것으로 알려져 있는데, 그 發病率도 매우 높아 고추의 경우 발생된 바이러스病 가운데 약 25%가 PVY에 의한 것이며, 감자에서도 약 4.5%의 感染率을 나타낸 바 있다.¹³⁾

잎담배 바이러스病으로는 TMV와 오이모자이크 바이러스 (CMV) 의 발생이 가장 많고¹⁶⁾, 특히 Burley種이 栽培되고 있는 中部 및 湖南地域에서는 TMV의 强抵抗性品種인 Burley 21이 재배되고 있는 관계로 CMV가 가장 위험한 바이러스로 問題되어 왔다. 그러나 最近 Burley種 栽培地域에서 前에 볼 수 없었던 새로운 病徵이 발견되기 시작하

였다. 이 病의 특징은 葉脈에 綠帶를 나타내는 症狀과 壞疽症狀을 나타내는 2가지 類型의 病징으로 구분되는데, 점차적으로 이 症狀을 나타내는 잎담배가 증가하고 있어 1983년도에는 우리나라 全 잎담배 產地에서 이 病징들이 觀察되었다.

本 연구는 病징을 서로 달리하는 이 病을 分離, 同定한 結果, PVY에 의한 것으로 2종의 새로운 系統 (strain) 임이 밝혀져 이에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

寄主範圍調査 : 포장에서 채집된 罹病葉은 Bokx 방법²⁾에 따라 감자 "A 6" 葉에 2回 繼代接種한 후 接種葉에 나타난 壞疽斑點을 살균된 막자사발에 갈아 담배 Burley 21 품종에 접종하였다. 이 때 접종은 carborundum (500~600 mesh) 塗林接種法에 의했다. 접종후 진딧물 또는 작업자에 의한 타 바이러스의 汚染을 방지하기 위하여 網으로 된 상

* 韓國人蔘煙草研究所 (Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, Suweon, Korea)

** 江原大學校 農科大學 (College of Agriculture, Kangwon National University, Choonchon, Korea)

*** 서울大學校 農科大學 (College of Agriculture, Seoul National University, Suweon, Korea)

자에 넣어 20~28℃의 온실에 보존하였다. 接種 2週후 全身感染된 잎을 수확하여 진공냉동건조 또는 無水 CaCl₂를 이용하여¹⁵⁾ 건조시켜 -20℃에 보존하면서 필요시 이를 接種源으로 사용하였다. 接种植物에 대한 병징은 접종후 4週까지 調査하였다.

抗血清反應 : SDS를 이용한 agar-gel double diffusion 法에 의했다. 이 때 擴散培地의 조성은 0.5% Agarose, 0.85% NaCl, 1% NaN₃, 0.5% SDS로 하였다. 非特異反應을 조사하기 위하여 tobacco etch virus (TEV)와 tobacco vein mottling virus (TVMV)의 抗血清 및 罹病汁液과도 그 반응을 비교하였다. 이 때 使用된 抗血清 및 對照用 바이러스는 美國 North Carolina 州立大學의 G.V. Gooding, Jr. 박사로부터 분양 받은 바이러스 (PVY:NC57, TEV:NC15, TVMV:NC148)와 이에 대한 抗血清이었다.

진딧물 傳染 : 진딧물에 의한 傳染 여부를 조사하기 위하여 복숭아혹진딧물 (*Myzus persicae*)을 1시간 切食시킨 다음 접종후 2週된 담배 Burley 21 품종에 옮겨 약 20~30초간 흡즙시켜서 건전 담배 1株當 5마리씩 옮기고 24시간후 殺蟲劑를 뿌렸다. 이 담배 苗들은 접종후 4週까지 溫室에 보존하면서 병징을 觀察하였다. 병징이 나타난 잎은 다시 抗血清反應 및 감자 "A6" 잎에 접종하여 PVY의 전염을 확인하였다.

物理的 性質 調査 : 접종 3週후의 罹病된 담배 잎을 막자사발에 갈아 搾汁後 耐熱性, 耐稀釋性 및 耐保存性を Bos⁴⁾ 方法에 따라 실시하였고, 바이러스의 活性여부는 감자 "A6" 및 담배 Burley 21 품종에 접종하여 조사하였다.

바이러스 粒子觀察 : 汁液接種후 2週된 담배 잎을 이용하여 dipping 法에 의해 粒子를 觀察하였다. 이 때 염색은 2%의 potassium phosphotungstate 로 하였으며, 粒子의 길이는 TMV (300nm)와 혼합하여 전자현미경 (Hitachi 11B) 촬영후 비교측정하였다.

結 果

圃場에서의 病徵 : 葉脈線帶症狀는 주로 적심기에 많이 발견되었다. 처음에는 葉脈이 투명해지기 시작하여 TMV 또는 CMV의 감염초기 병징과 區分하기 어려웠다. 그러나 점차적으로 細脈을 중

심으로 가늘게 농록색을 띄며 그 주위 葉肉부분은 옅은 녹색을 띄워 葉脈線帶 (vein banding) 증상을 뚜렷하게 나타냈다 (Fig. 2). 많은 細脈들이 線帶를 나타내면 그물 (net) 形態의 線帶를 이루었는데 이같은 증상은 葉의 基部에서 더욱 뚜렷하게 나타났다. 감염된 罹病株는 健全株에 비해 잎의 黃化現象이 빨리 나타났으며 이 黃化現象은 감염된 葉처럼 보였고 葉육도 얇게 보였다. 잎의 奇型 또는 현저한 생육의 위축 등 바이러스 감염 특유의 증상이 나타나지 않아 감염초기에는 세심한 관찰을 하지 않으면 健全株와 구분하기 어려웠다.

葉脈壞疽症狀도 적심기에 이르러 많이 관찰되었다. 감염초기에는 下位葉의 葉脈이 黃褐色으로 변하기 시작하여 점차 뚜렷한 壞疽症狀를 나타냈으며 (Fig. 1) 특히 最大葉 이하의 葉에 주로 나타났다. 이 壞疽症狀는 점차적으로 葉肉 부분까지 확대되어 후기에는 葉이 고사하였다. 移植 후 초기에 감염된 것은 땅가 줄기에도 부분적으로 壞疽症狀이 나타났으며, 병징이 심한 경우는 葉柄의 導管部에 褐變現象이 나타났다. 또한 上位葉은 葉幅이 좁아지며 葉의 裏面쪽으로 구부러지고 葉脈이 점차 褐變되어 下位葉처럼 심한 壞疽症狀를 나타내 고사되는 경우가 많다. 일반적으로 罹病葉은 健全葉에 비해 葉肉 부위가 두껍고 탄력성이 없어 쉽게 부러지는 특징을 보였고 罹病株의 莖순에서는 황갈색의 불규칙한 斑點이 나타났다.

寄主反應 : 供試된 담배 (*Nicotiana tabacum*)의 경우, 全 품종들은 葉脈線帶株의 汁液接種에 의해 초기 葉脈透明症狀를 나타냈으며, 점차적으로 뚜렷한 葉脈線帶症狀를 보였다. 葉脈壞疽株의 접종에 의해서는 초기 細脈을 따라 황갈색의 壞疽가 나타나며 葉이 뒷쪽으로 말려 포장에서의 병징과 類似하게 나타났다. 그러나 *N. repanda*에서는 葉脈線帶株의 접종이 全身의인 mottling 증상을 보인 반면, 葉脈壞疽株는 아무런 병징도 나타내지 않았다 (Table 1). *N. longiflora*에서는 두 罹病株 모두 병징이 없었으나, 抗血清反應 및 잎담배 Burley 21 품종에 재접종한 결과 바이러스의 감염이 確認되었다. 또 *Chenopodium amaranticolor*에서는 葉脈線帶株 접종에 의해 황색의 局部斑點이 接種葉에 나타난 反面 (Fig. 5), 葉脈壞疽株에 의해서는 病斑이 형성되지 않았다. 감자 "A6" 葉에서는 두 罹病株 모두 고리모양의 壞疽斑點을 나타냈다 (Fig. 3). 한편 고추 (Fig. 4), *Physalis*

Table 1. Symptoms on various plants when inoculated with either one of two strains (PVY-VB and PVY-VN)¹⁾

Plants inoculated	PVY - VB	Recovery ²⁾	PVY- one	Recovery
<i>Nicotiana tabacum</i>				
var. Burley 21	VC, VB, Mo ³⁾	+	VN, mMo	+
NC 95	VC, VB, Mo	+	VN, mMo	+
NC 2326	VC, VB, mMo	+	VN, Mo	+
White Burley	VC, VB, Mo	+	VN, Mo	+
Xanthi-NC	VC, VB, Mo	+	VN, mMo	+
<i>N. megalosiphon</i>	NR, Mo	+	mVN, Mo	+
<i>N. glutinosa</i>	VC, Mo	+	Vc, Mo	+
<i>N. repanda</i>	VC, Mo	+	No symptom	-
<i>N. longiflora</i>	No symptom	+	No symptom	+
<i>Physalis floridana</i>	mMo	+	mMo	+
<i>Capsicum annuum</i> cv.				
California Wonder	Mo	+	mMo	+
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	ChLL	+	No symptom	-
Potato "A6"(<i>Solanum tuberosum</i> × <i>S. demissum</i>)	NR	+	NR	+
<i>Datura stramonium</i>	No symptom	-	No symptom	-
<i>Gomphrena globosa</i>	No symptom	-	No symptom	-
<i>Cucumis sativus</i>	No symptom	-	No symptom	-
<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Pinto	No symptom	-	No symptom	-
<i>Vigna sinensis</i> cv. Black eye	No symptom	-	No symptom	-

1) PVY-VB, and PVY-VN : Potato virus Y strains, respectively.

2) Recovery tests were done by two methods : reinoculation to detached leaves of potato "A6" as the local lesion host, and serological reaction.

3) ChLL: Chlorotic local lesions on inoculated leaf

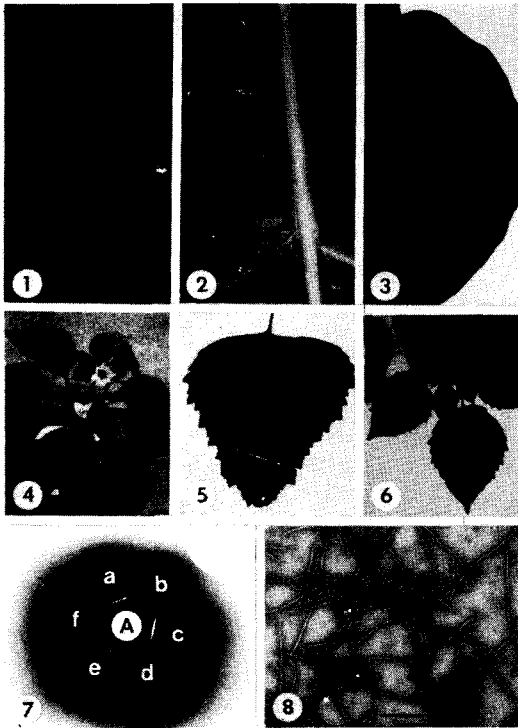
Mo : Mottling mMo : Mild mottling mVN : Mild vein necrosis
 NR : Necrotic ring on inoculated leaf VB : Vein banding
 VC : Vein clearing VN : Vein necrosis

floridana(Fig.6) 및 *N. glutinosa*에서는 두罹病株 접촉에 의해 모두 mottling 증상을 나타냈다. 이밖의 독말풀 (*Datura stramonium*), 오이 (*Cucumis sativus*), 강남콩 (*Phaseolus vulgaris*), 천일홍 (*Gomphrena globosa*) 및 동부 (*Vigna sinensis*) 등에 접종하였을 경우는 감염되지 않았다.

抗血清反應: SDS를 이용한 agar-gel double diffusion 法으로 조사한 결과 두罹病株의 汁液은 PVY 抗血清에 對하여 陽性反應을 나타냈는데 서로 융합되는 沈降帶를 형성하였으며 TEV

또는 TVMV罹病汁液과는 반응하지 않았다(Fig. 7). 이들 沈降帶는 20℃ 恒溫器 내에서 반응시킨지 5시간후부터 나타나기 시작하였으며, 16~24시간 후에 가장 명료하였다.

진딧물 媒介性: 복숭아혹진딧물(*M. persicae*)에 의한 감염여부를 조사한 결과 接種株數의 80% 이상이 감염되었으며 그 병정도 포장에서와 유사한 葉脈線帶 및 葉脈壞疽症狀를 나타냈다. 이 같은 병징은 진딧물 접촉 2週후부터 나타나기 시작하여 3~4週후에 서로 특징적인 병징을 나타냈다. 이들罹病葉의 汁液을 PVY 抗血清과 반응시킨 결과



ig.1. Veinal necrosis on tobacco cv. Burley 21.
 2. Vein banding from naturally diseased Burley 21 tobacco leaf.
 3. Necrotic rings on potato "A6" leaf, 7 days after inoculation with PVY-VN.
 4. Mottling and malformation on *Capsicum annuum* var. California wonder, 3 weeks after inoculation with PVY-VN.
 5. *Chenopodium amaranticolor*, showing chlorotic local lesions on inoculated leaf, 10 days after inoculation with PVY-VB.
 6. *Physalis floridana*, showing mottling of leaves, 3 weeks after inoculation with PVY-VN.
 7. Serological reaction in SDS-immunodiffusion test with the two strains (PVY-VB, PVY-VN). The center well (A) had PVY antiserum, and the peripheral wells were filled with SDS-treated extracts of tobacco leaves infected with (a) PVY-VB, (b) TVMV, (c) PVY-VN, (d) TEV, (e) PVY (type strain MSMR), and (f) PVY-VN.
 8. An electron micrograph of PVY-VB negatively stained with potassium phosphotungstate. Bar represents 300 nm.

陽性反應을 나타냈으며, 감자 "A6"에 접종했을 때도 necrotic ring 증상을 나타냈다.

바이러스 物理的 性質: 두 罹病株의 汁液은 모두 耐熱性 60~65℃, 耐稀釋性 10,000 배, 耐保存性은 6~7日 정도로 나타났다.

바이러스의 形態: 罹病葉의 汁液을 電子顯微鏡으로 觀察한 결과 약 730 nm의 絲狀形 바이러스 粒子가 관찰되었으며 (Figs. 8-9), 葉脈線帶 및 壞疽症狀株間에는 형태 및 질이에 차가 인정되지 않았다.

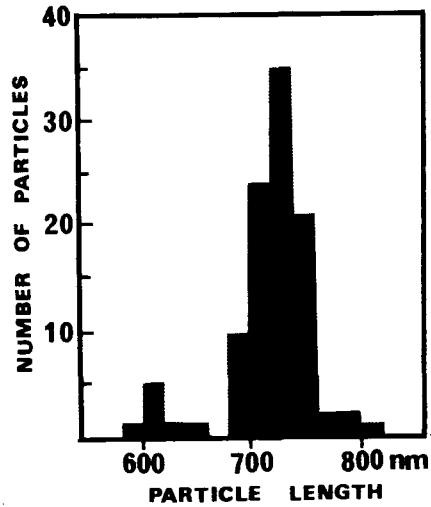


Fig. 9. Particle length histogram of the strain, PVY-VB, observed in crude sap preparations.

考 察

이상의 결과들로 미루어 한국 잎담배에서 분리한 바이러스는 모두 PVY로 판단되는데 이들이 서로 병징을 달리하는 것은 PVY의 서로 다른 系統일 것으로 추정된다.

한편 포장에서 自然感染된 葉脈線帶 병징은 TV MV의 병징^{17,19,21)}과 매우 유사하며, 葉脈壞疽病徵은 TEV의 병징¹⁴⁾과 매우 유사하였다. 그러나 TEV는 고추에 감염되면 위조증상을 나타내고, 독말풀에서는 mottling 증상을 나타내는 반면^{7,10)} 본 시험에서 分離된 두 系統은 고추에서 mottling 증상을, 독말풀에는 감염되지 않아 TEV가 아님을 알 수 있었다. 또 TVMV 抗血清과 이 두 系統은

반응되지 않았다. PVY는 TEV나 TMV와 抗血清反應에서 서로 반응되지 않기때문에^{7,8,18)} 이들과 抗血清反應에 의해 PVY를 진단하는데에는 매우 편리하고 정확한 방법으로 생각된다. 本 실험에서도 TEV나 TMV는 PVY 抗血清과 반응하지 않았다.

Gooding과 Tolin⁹⁾은 잎담배에서 分離된 PVY를 잎담배에서의 병징에 따라 3가지 系統으로 구분하였다. 즉, 3가지 系統은 모두 Burley 21품종에서 全身의인 mottling 증상을 나타내며, 다른 잎담배 품종인 NC 95와 NC 2326 (또는 McNair 12)에서는 壞疽와 mottling 증상이 서로 틀리게 나타나는 것을 이용하여 系統을 判別하였다. 그러나 本 실험에서 分離한 2가지 系統은 이들 담배품종들에서 葉脈緣帶株는 모두 葉脈緣帶증상을, 葉脈壞疽株는 壞疽症狀만을 나타냄으로서 Gooding의 系統과는 서로 다른 系統으로 생각된다.

PVY의 物理的性質中 耐熱性은 50~60℃, 耐稀釋性은 $10^{-2} \sim 10^{-6}$, 耐保存性은 7~50일로 보고되어 있어^{1,3,6,12,22)} 조사자에 따라 큰 차를 보이고 있다. 本 실험에서도 두 系統 모두 이들 범위에 들어있다. 이 같은 연구자에 따른 물리적 성질의 차는 寄主植物의 종류, 검정용 寄主植物의 종류, 또는 개인별 실험오차 등에 따라 차이가 날 수 있기때문에 바이러스를 分類, 同定하는데에 이들 物理性이 절대적인 기준으로 이용되기는 어려운 것으로 생각된다.

한편, PVY 粒子的 길이도 조사방법 및 조사자에 따라 약간의 차이는 있으나^{3,5)} 本 실험에서 조사된 두 系統은 이들의 결과와 유사하였다.

따라서 이상의 결과들로 미루어 한국 잎담배에서 分離한 葉脈緣帶 및 葉脈壞疽症狀株는 potyvirus group¹¹⁾에 속하는 바이러스로서, PVY로 判단된다. 또한 이 두 分離株는 병징을 달리하는 PVY의 系統으로 判단되어 이들 系統은 이후 葉緣帶系統 (PVY-VB) 및 葉脈壞疽系統 (PVY-VN)으로 기술기로 한다.

摘 要

1980 년도부터 우리나라 Burley 種 잎담배산지에서 葉脈에 緣帶症狀 또는 壞疽症狀를 나타내는 새로운 병징이 관찰되기 시작하였다.

寄主範圍調査, 抗血清反應, 物理的性質調査, 복숭

아혹진딧물에 의한 전염여부 및 바이러스 粒子 관찰을 통해 이들은 서로 병징을 달리하는 PVY의 두가지 系統으로 밝혀졌다. 이 系統들은 잎담배포장에서 自然感染에 의해 나타난 주요병징에 따라 葉脈緣帶系統 (PVY-VB)과 葉脈壞疽系統 (PVY-VN)으로 命名하였다.

PVY 抗血清과 이 系統들의 罹病汁液을 반응시킨 결과 陽性反應을 나타냈으며 그 반응에서는 두 系統間의 차가 없었다. 이들과 병징이 유사한 tobacco etch virus 및 tobacco vein mottling virus 抗血清과의 반응에서는 음성반응을 나타냈다.

전자현미경에 의해 약 730 nm의 絲狀形 바이러스 粒子가 관찰되었으며 그 형태와 크기에는 두 系統間 차가 없었다.

引用 文 獻

- Bald, J.G. and D.O. Norris. 1945. Virus C from an old Australian variety of potato. *Phytopathology* 35 : 591-597.
- Bokx, J.A.de. 1972. Viruses of potatoes and seed - production. 233pp., Pudoc. Wageningen, The Netherlands.
- Bokx, J.A.de. and H.Huttinga. 1981. C.M. I./A.A.B. Descriptions of plant viruses, Potato Virus Y. No. 242.
- Bos, L., D.J. Hayedorn, and L. Quantz. 1960. Suggested procedures for international identification of legume viruses. *Tijdr. Plantenziekten* 66 : 328-343.
- Brandes, J. and R. Bercks. 1965. Gross morphology and serology as a basis for classification of elongated plant viruses. *Adv. Virus Res.* 11 : 1-24.
- Edwardson, J.R. 1974. Some properties of the potato virus Y group. *Fla. Agric. Expt. Stn. Monogr.* 4, 398pp.
- Gooding, G.V., Jr. 1975. Serological identification of tobacco viruses. *Tob. Sci.* 19 : 127-130.
- Gooding, G.V., Jr. and W.W. Bing. 1970. Serological identification of potato virus Y and tobacco etch virus using immunodiffusion plates containing SDS. *Phy-*

- topathology 60:1293.
9. Gooding, G.V., Jr. and S.A. Tolin. 1973. Strains of potato virus Y affecting flue-cured tobacco in the south-eastern United States. *Plant Dis. Repr.* 57:200-204.
 10. Greenleaf, W.H. 1953. Effects of tobacco etch virus on pepper. *Phytopathology* 43: 564-570.
 11. Harrison, B.D., J.T. Finch, A.J. Gibbs, M. Hollings, R.J. Shepherd, V. Aalenta, and C. Wetter. 1971. Sixteen groups of plant viruses. *Virology* 45 : 356-363.
 12. Horvath, J. 1966. Studies on strains of potato virus Y. I. Strain C. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 1:125-138.
 13. La, Y.J. 1974. Serological identification of potato viruses in Korea. *Korean J. Plant Prot.* 14:41-45.
 14. Lucas, G.B. 1975. Diseases of tobacco, 3rd ed. 621 pp. Biological Consulting Associate, N.C., U.S.A.
 15. Noordam, D. 1973. Storage of Viruses. In: Identification of plant viruses. Methods and experiments. p.183-185, Centre for Agricultural Publ. and Docu., Wageningen, Netherlands.
 16. Park, E.K. 1975. Serological identification of virus diseases of tobacco in Korea. *Korean J. Korean J. Plant Prot.* 14:59-63.
 17. Pirone, T.P., G.V. Gooding, Jr., and J.H. Smiley. 1973. Tobacco vein mottling virus on burley tobacco in Kentucky. *Plant Dis. Repr.* 57: 841-844.
 18. Purcifull, D.E. and D.L. Batchelor. 1977. Immunodiffusion tests with sodium dodecyl sulfate (SDS)-treated plant viruses and plant viral inclusions. *Fla. Agr. Exp. Stn. Tech. Bull.* 788, 39pp.
 19. Sievert, R.C. 1974. Tobacco vein mottling virus found in Tennessee. *Plant Dis. Repr.* 58:1073-1074.
 20. Smith, K.M. 1972. A text book of plant virus diseases. Longman, London, 684pp.
 21. Tolin, A. 1974. Properties of tobacco vein mottling virus pathogen of tobacco. *Phytopathology* 64:1133-1136.
 22. Tomaru, K. and A. Udagawa. 1968. A new strain of potato virus Y isolated from burley tobacco in Japan. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 34:77-84.